

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : **63-162685**

(43) Date of publication of application : **06.07.1988**

(51) Int.CI.

C07D311/62

(21) Application number : **61-308098**

(71) Applicant : **KIKKOMAN CORP**

(22) Date of filing : **26.12.1986**

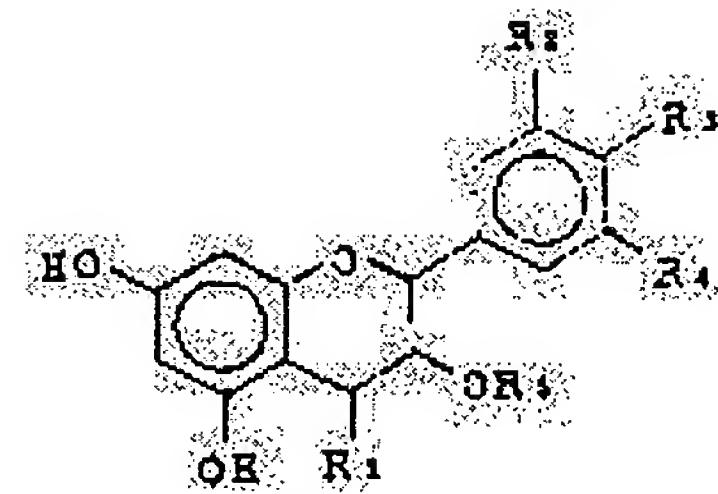
(72) Inventor : **ARIGA TOSHIAKI
HAMANO MITSUTOSHI
FUKUSHIMA DANJI**

(54) PRODUCTION OF PROANTHOCYANIDIN

(57) Abstract:

PURPOSE: To easily obtain the titled substance useful as antioxidant, raw material for pharmaceuticals, etc., from a proanthocyanidin-containing liquid in high yield, by using a PS resin as an adsorbent resin and eluting the adsorbed component with a polar solvent at a specific temperature.

CONSTITUTION: A liquid containing proanthocyanidin [e.g. a 2W10-mer containing the unit of formula (R1 is H or OH; R2WR4 are H, OH, methoxy, etc.; R5 is H, galloyl or glycopyranosyl) as a constituent unit] which is obtained generally by the extraction of various vegetables with an aqueous medium is adsorbed to a PS resin. The resin is washed with a polar solvent at $\leq 50^{\circ}\text{C}$ (usually at 0W50°C) and then the adsorbed component is eluted with a polar solvent at $\geq 60^{\circ}\text{C}$ (preferably at 80W150°C) to obtain the objective proanthocyanidin. The polar solvent used in the above processes is preferably water or a mixture of water and 20% ethanol, methanol, propanol, etc.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭63-162685

⑯ Int. Cl. 1

C 07 D 311/62

識別記号

厅内整理番号

6971-4C

⑭ 公開 昭和63年(1988)7月6日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 プロアントシアニジンの製造法

⑯ 特 願 昭61-308098

⑰ 出 願 昭61(1986)12月26日

⑱ 発明者 有賀 敏明 千葉県野田市岩名2-17-17

⑲ 発明者 浜野 光年 埼玉県北葛飾郡杉戸町清池1-9-15

⑳ 発明者 福島 男児 埼玉県大宮市高鼻町3-40

㉑ 出願人 キッコーマン株式会社 千葉県野田市野田339番地

明細書

1. 発明の名称

プロアントシアニジンの製造法

2. 特許請求の範囲

プロアントシアニジン含有液をポリスチレン系樹脂に吸着させた後、該吸着区分を極性溶媒を用いて50°C以下で洗浄し、次いで60°C以上で極性溶媒を用いて溶出させることを特徴とするプロアントシアニジンの製造法。

3. 発明の詳細な説明

【産業上の利用分野】

本発明は、食品、化粧品の酸化防止剤や医薬品等の製造原料として有用なプロアントシアニジンを効率良く製造する方法に関する。

【従来の技術】

従来知られているプロアントシアニジンの分離法としては、例えばセファデックスLH-20等のデキストラン誘導体を担体とするカラムクロマトグラフィー法 (R. S. Tompson等著、J. Chem.

Soc. Perkin I, No.11, 1387 (1972))、ポリアミドを担体とするカラムクロマトグラフィー法 [J. P. Van Buren等著、J. Food Sci., vol.31, 964 (1966)]、あるいはシリカゲルを用いる液体クロマトグラフィー法 [C. William Glennie等著、J. Agric. Food Chem., vol.29, 965~968 (1981)] 等が挙げられる。

【発明が解決しようとする問題点】

上記した分離法のうち、デキストラン誘導体を用いる方法は、該誘導体自体のコストが高く高いことの他、目的物を溶出させるのに長時間を要する等の欠点があり、ポリアミドを使用する場合、該樹脂に目的物は吸着はされるが、溶離されるプロアントシアニジンの量が極めて少量である等の欠点があり、またシリカゲルを用いる場合、タロマトグラフィーでの溶出の際、強酸等の添加及び特別な後処理操作を必要とする等、目的物の分離操作が著しく繁雑となる等の欠点がある。

【問題点を解決するための手段】

上記実情に鑑み、本発明者はプロアントシア

ニジンを効率良く分離するのに有効な種々の吸着樹脂を選択すべく経験検討を重ねた結果、プロアントシアニジンを分離するに際し、吸着樹脂としてポリスチレン系樹脂を用い、また60°C以上で極性溶媒を用いて溶出されれば、高純度のプロアントシアニジンを著しく効率良く得ることが出来ることを見出し、本発明を完成するに至った。

即ち、本発明はプロアントシアニジン含有液をポリスチレン系樹脂に吸着させた後、該吸着区分を極性溶媒を用いて50°C以下で洗浄し、次いで、60°C以上で極性溶媒を用いて溶出させることを特徴とするプロアントシアニジンの製造法である。

以下、本発明を詳述する。

本発明で言うプロアントシアニジンは、各種の植物体中に存在する総合型タンニン、すなわちフラバノールまたはフラバノ-3,4-ジオールを構成単位として総合もしくは重合により結合した化合物群であって、これらは酸処理によりシアニジン、デルフィニジン、ペラルゴニジン

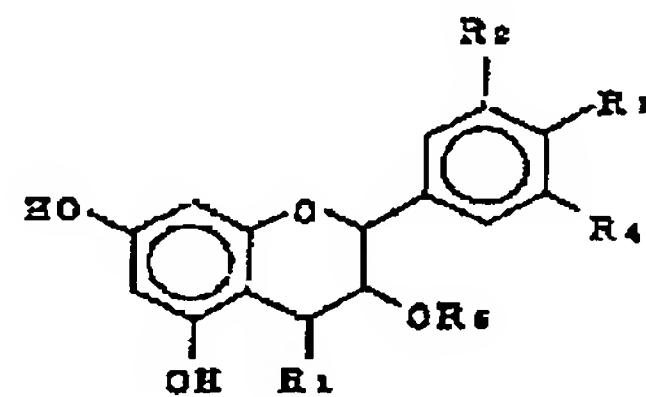
先ず、本発明で用いるプロアントシアニジン含有液は、プロアントシアニジンを含有する液であれば何れを用いても良く、例えばリンゴ、ブドウ、柿、クランベリー等の果実の水抽出液、小豆、黒大豆等の豆類の水浸漬液、大黄、麻黄、楊梅皮等の薬草の含水アルコール抽出液またはプロアントシアニジン合成反応物の含水アルコール溶液等が具体例として挙げられる。

そして、吸着樹脂として用いられるポリスチレン系樹脂としては、例えばダイヤイオンHP20、HP21、SP206、SP207、CHP3C、CHP5C、CHP20P（以上、何れも三菱化成工業社製）、アンバーライトXAD-1、XAD-2、XAD-4（何れもオルガノ社製）等が好適な例として挙げられる。

前記したプロアントシアニジン含有液を、そのまま、必要により水またはエタノール、メタノール、プロパンノール、ブタノール、アセトニトリル、アセトン等の有機溶媒に溶かしたものと、ポリスチレン系樹脂に吸着させ、次いで該吸着区分

等のアントシアニジンを生成するところから、この名称が与えられているものである。

従って該プロアントシアニジンとしては、上記構成単位の2量体、3量体、4量体さらに10量体以上の高分子のプロシアニジン、プロデルフィニジン、プロペラルゴニジン等のプロアントシアニジンおよびそれらの立体異性が全て含まれ、次の一般式



（式中、R₁は水素または水酸基、R₂、R₃、R₄は水素、水酸基またはメトキシル基、R₅は水素、ガロイル基またはグリコビラノシル基である。）で示されるフラバノ-3-オールまたはフラバノ-3,4-ジオールを構成単位とした2～10量体等である。

を、極性溶媒を用いて50°C以下、通常0～50°Cの範囲で洗浄する。

上記極性溶媒としては、水またはエタノール、メタノール、プロパンノール、ブタノール、アセトニトリル、アセトン、酢酸等の通常20%（v/v）程度以下の濃度の極性溶媒を用いるのが望ましい。

そして、目的物であるプロアントシアニジンを溶出させるに際し、60°C以上で極性溶媒を用いて溶出させる。

なお、上記極性溶媒としては水またはエタノール、メタノール、プロパンノール、ブタノール、アセトニトリル、アセトン、酢酸等の有機溶媒が用いられ、特に望ましくは水または20%（v/v）以下の濃度のエタノール、メタノール、プロパンノール等である。

また、溶出させる際の温度は、60°C以上で行ない、望ましくは80～150°C程度である。なお、60°C未満であると目的とするプロアントシアニジンの回収率が著しく低下するため、本発明

に於いては不適である。

上記操作により、目的とする高純度のプロアントシアニジンを収率良く、しかも簡易な操作で得ることが出来る。

[発明の効果]

本発明によれば、高純度のプロアントシアニジンを簡易な操作で、収率良く得ることが出来、本発明は産業上著しく有意義である。

以下、実施例により本発明を具体的に示す。

[実施例]

実施例1

新鮮なトチの木 (*Aesculus hippocastanum*) の外皮 1kg をメタノール 6L とともにフーリングブレンダー中で磨碎抽出し、水性メタノール抽出液 5L を得た。これを石油エーテル 5L で 3 回洗浄した後、35~38°C で減圧濃縮してメタノールを除去し、かかる後水を加えてプロアントシアニジン含有水溶液 2L を得た。

この水溶液にポリスチレン系樹脂としてセバビーズ SP 207 (三菱化成工業社製) 150g を

添加し、5°C で 20 時間搅拌し、プロアントシアニジンを前記 SP 207 に吸着させた。

次いでこの樹脂を 20°C の水 2L で 3 時間振盪させて洗浄し、非吸着性物質を除去した。

そして該樹脂を分別した後水を切り、240g のプロアントシアニジンを吸着させた湿潤樹脂を得た。これを各々 7.5g ずつ耐圧性栓付サンプルビン (200mL 容) に移し、第 1 表に示す各試験溶媒 75mL を加え、更に第 1 表に示す各試験温度にて、それぞれ 3 時間振盪して溶出させた。

溶出終了後グラスフィルターで滤過し、次いで上記溶出溶媒と同一の溶媒を用いて 75mL に合わせ分析に供し、その結果を第 1 表に示した。

なお、試料中のプロアントシアニジンの分量は、塩酸一ブタノール法 [W. E. Hillis : J. Sci. Fd. Agric. 10, 135 (1959)] により、ロイコアントシアン量を OD_{550 nm} として、測定した。

第 1 表 プロアントシアニジンの溶出量 (OD_{550 nm})

溶媒 温度	水	5% (v/v) エタノール	10% (v/v) エタノール
30°C	0.024	0.038	0.067
50°C	0.033	0.065	0.112
60°C	0.062	0.113	0.185
80°C	0.128	0.204	0.319
100°C	0.200	0.305	0.480
120°C	0.295	0.442	0.637
150°C	0.141	0.210	0.320
170°C	0.035	0.072	0.122

第 1 表より明らかに如く、何れの極性溶媒を用いた場合に於いても、60°C 以上の加熱条件下では著しくプロアントシアニジンの溶出量が増加することが認められた。

実施例 2

予め 1N-NaOH、水及びメタノールで洗浄済みのポリスチレン系樹脂ダイヤイオーン HP 20 (三菱化成工業社製) 2L を水中で膨潤させた後、ヒーターを装備し、かつ断熱材で包装したステンレスカクム (10 × 40cm) に充填した。それにリンゴ酒製造用のリンゴジュース (果汁 100%、pH 3.5、糖度 12.6、プロアントシアニジン 2~6 量体含量 0.10%) 40L を SV: 1 の速度 (5°C) で流し、プロアントシアニジンを吸着させた。次いで上記と同じ流速で、40°C の水 6L にて洗浄し低分子のアルコール性物質を除去した。次に 94~96°C の熱水 8L を用いて SV: 1 の速度で溶出させた。溶出液をフラッシュエバボレーターで 500mL まで濃縮した後、常法により凍結乾燥して粗プロアントシアニジン 35g を得た。本品のプロアントシアニジン (2~6 量体) の含量は 75% (w/w)、原料リンゴジュースからの回収率は 66% (w/w) であった。

なお、第 2 表に示される対照 1 及び対照 2 は、

上記操作のうち、ポリスチレン系樹脂ダイヤイオン HP 20 の代わりにデキストラン誘導体（セファデックス LH-20）及びポリアミド（ポリアミド C-200）を用いる以外は、上記と全く同様に処理して得たものである。

第2表中、プロアントシアニジンの2～6量体の定量は、先ず、検体中の全フラバノールを R. B. Broadhurst らの方法（J. Sci. Fd Agric., 1978, 29, 788-794）により定量する。一方で、同時に検体のフラバノールの分子量分布を A. G. H. Lea らの方法（J. Sci. Fd Agric., 1978, 29, 471-477）により TLC で分離し、高速薄層クロマトスキャナ（CS-920型、島津製作所製）にて分析した。この2つのデータからプロアントシアニジン2～6量体を算出した。なお、標準品として、R. Eastmond の方法（J. Inst. Brew., 1974, vol.80, 188-192）により合成した2量体プロシアニジンB-3を用いて検量線を作成し、定量値は2量体プロシアニジンB-3換算値として算出した。

第2表 他の樹脂との比較

試料 測定項目	本発明		対照	
	対照1	対照2	対照1	対照2
粗プロアントシアニジン 収量	3.5g	1.8g	1.2g	1.1%
プロアントシアニジンの 2～6量体の含量 [% (w/w)]	75%	65%	35%	
プロアントシアニジンの 面積率 [% (w/w)]	66%	24%		

対照1：デキストラン誘導体樹脂
〔セファデックス LH-20 (スウェーデン、ファルマシア社製)〕

対照2：ポリアミド樹脂
〔ポリアミド C-200 (和光純素工業社製)〕

第2表より明らかな如く、本発明によれば対照1及び対照2に比し、著しく高純度のプロアントシアニジンを得ることの出来ることが認められた。